Problème I : Etude d'ultramicroélectrodes

Les ultramicroélectrodes, de dimension au moins micrométrique ou encore plus petite, constituent une classe à part et permettent en particulier d'étudier certains processus fondamentaux de la biologie. Cet aspect est développé dans le problème à partir de deux exemples : la caractérisation d'une réponse d'un stress oxydatif au niveau d'une seule cellule vivante et l'exocytose vésiculaire d'adrénaline par les cellules chromaffines surrénales.

La procédure la plus commode pour la réalisation d'une ultramicroélectrode disque-plan, de rayon *r*, consiste à introduire dans la partie effilée d'un tube de verre (matière inerte) un fil de platine mince. On scelle ensuite l'ensemble en ramollissant le verre par léger chauffage. On fait ensuite apparaître le disque en coupant la pointe du capillaire, la surface plane étant ensuite obtenue par polissage. Ce type d'électrode est ensuite pour des mesures *in vitro* tel qu'en **I-3*c*** (voir Figure 3).

AVERTISSEMENT :
Aucune connaissance sur les ultramicroélectrodes et les processus biologiques étudiés n'est nécessaire pour traiter l'ensemble du problème. Certaines valeurs numériques exigées dans le problème pourront être obtenues à l'issue de calculs simplifiés.

Les différentes parties du problème sont largement indépendantes.

DONNEES à 298 K

- **Constantes :**

Faraday : $F = 96500\ C\ mol^{-1}$; $\frac{RT}{F} ln10 = 0,06\ V$;

Constante d'Avogadro : $N_A = 6 \cdot 10^{23}\ mol^{-1}$; $\pi \approx 3$

- **Potentiel standard (en volt) à 298 K et pH = 0 :**

$O_2(g) / H_2O_2(aq)$	$Ag^+(aq) / Ag(s)$	$O_2(g) / H_2O$
0,69	0,8	1,23

- **Surtension à vide anodique (en volt) sur Pt :**

$\eta(H_2O_2(aq)/O_2(g)) = + 0,4$; $\eta(H_2O/O_2(g)) = + 0,7$;

- **Surtension à videcathodique (en volt) sur Pt :**

$\eta(O_2(g)/H_2O_2(aq)) = - 0,4$; $\eta(O_2(g)/H_2O) = - 0,7$;

© EduKlub S.A.
Tous droits de l'auteur des œuvres réservés. Sauf autorisation, la reproduction ainsi que toute utilisation des œuvres autre que la consultation individuelle et privée sont interdites.

Extrait gratuit de document, le document original comporte 16 pages.

- **Constantes d'équilibre en solution aqueuse :**

- Solubilité du chlorure d'argent :

$$AgCl(s) \rightleftarrows Ag^+(aq) + Cl^-(aq) \qquad K_{s1} = [Ag^+]\cdot[Cl^-] = 10^{-10}$$

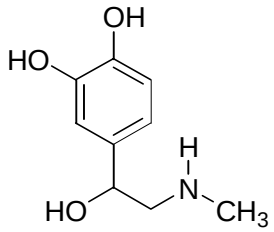
- Constantes d'équilibre mettant en jeu l'ion Ni^{2+} :

$$Ni^{2+}(aq) + HA^-(aq) \rightleftarrows Ni(AH)^+(aq) \qquad \beta = \frac{[NiAH^+]}{[Ni^{2+}]\cdot[HA^-]} = 10^{+7,0}$$

$$Ni(OH)_2(s) \rightleftarrows Ni^{2+}(aq) + 2\,HO^-(aq) \qquad K_{s2} = [Ni^{2+}]\cdot[OH^-]^2 = 10^{-15,8}$$

On négligera toute autre réaction faisant intervenir l'ion Ni^{2+} dans l'eau.

- Constante d'acidité de l'adrénaline, notée H_2A :



adrénaline H_2A

$$K_3 = \frac{[H_2A]\cdot[H^+]}{[H_3A^+]} = 10^{-8,7}$$

$$K_2 = \frac{[HA^-]\cdot[H^+]}{[H_2A]} = 10^{-10,2}$$

$$K_1 = \frac{[A^{2-}]\cdot[H^+]}{[HA^-]} = 10^{-14,2}$$

I- Etude de la chronoampérométrie : intérêt des ultramicroélectrodes

I-1 Généralités sur les courbes intensité de courant-potentiel

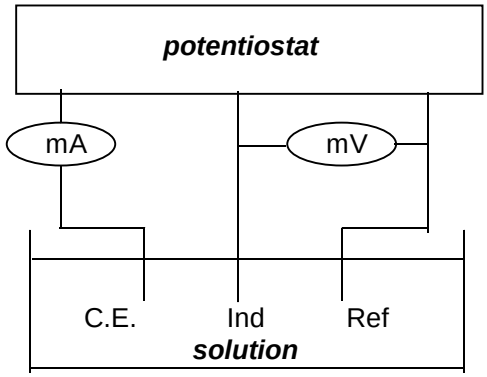
Le montage expérimental permettant d'établir les courbes intensité-potentiel comporte en général trois électrodes dont une électrode indicatrice inattaquable (appelée également électrode de travail), d'aire suffisamment petite pour que les quantités d'espèces consommées soient négligeables, plongée dans une solution contenant un couple *Ox/Red* échangeant *n* faradays par mole, aux concentrations respectives [*Ox*] et [*Red*], représenté par le processus électrochimique (1), de potentiel standard $E°_{Ox/Red}$:

$$Red \rightleftarrows Ox + ne^- \qquad (1)$$

Le schéma d'un tel montage à trois électrodes (voir Figure 1) (comprenant un potentiostat, milliampèremètre, noté mA, un millivoltmètre, noté mV) est le suivant :

© EduKlub S.A.
Tous droits de l'auteur des œuvres réservés. Sauf autorisation, la reproduction ainsi que toute utilisation des œuvres autre que la consultation individuelle et privée sont interdites.

Extrait gratuit de document, le document original comporte 16 pages.



Ind : ***électrode indicatrice***

Ref : ***électrode de référence***

C.E. : ***contre électrode ou auxiliaire***

Figure 1 : ***Montage à trois électrodes***

I-1*a* Justifier que l'électrode $\mathrm{Ag(s)}\,|\,\mathrm{AgCl(s)}\,|\,\mathrm{KCl(aq)}\ (1\ \mathrm{mol\cdot L^{-1}})$ est une électrode de référence. Déterminer son potentiel par rapport à l'électrode standard à hydrogène.

I-1*b* Pourquoi ne doit-il pas passer de courant au travers de l'électrode de référence ?

Indiquer les branches où l'intensité du courant est nulle ou non-nulle.

Préciser la nature du métal constituant l'électrode indicatrice inattaquable.

I-1*c* Qu'appelle-t-on un système rapide ? un système lent ?

Donner l'allure des courbes $i = f(E)$ correspondantes en rappelant la convention habituellement choisie pour le signe de l'intensité du courant qui traverse.

Qu'observe-t-on en imposant à l'électrode indicatrice des potentiels très élevé ou très faible ?

Indiquer clairement la réaction se produisant à l'électrode indicatrice ayant lieu pour chaque portion de courbes.

I-2 Modélisation

On se propose d'étudier dans cette question la relation existant entre l'intensité i et la concentration en réducteur *Red*, introduit seul en solution et appartenant au système électrochimique (1) considéré comme rapide. On applique à l'électrode indicatrice un potentiel supérieur au potentiel standard $E°_{Ox/Red}$. Il s'établit alors un flux de matière, J_{Red}, qui s'accompagne d'un courant d'intensité i proportionnel à ce flux. On adopte en première approximation un profil de concentration linéaire dans une couche de solution, dite couche de *diffusion*, d'épaisseur δ_{dif} (voir Figure 2). On note $[\mathrm{Red}]_{solution}$ et $[\mathrm{Red}]_{électrode}$ les concentrations en réducteur, respectivement en solution et à proximité immédiate de la surface

 © EduKlub S.A.
Tous droits de l'auteur des œuvres réservés. Sauf autorisation, la reproduction ainsi que toute utilisation des œuvres autre que la consultation individuelle et privée sont interdites.

Extrait gratuit de document, le document original comporte 16 pages.

de l'électrode. On supposera dans cette question que la couche de diffusion est de très faible épaisseur et indépendante du temps (solution agitée ou électrode tournante).

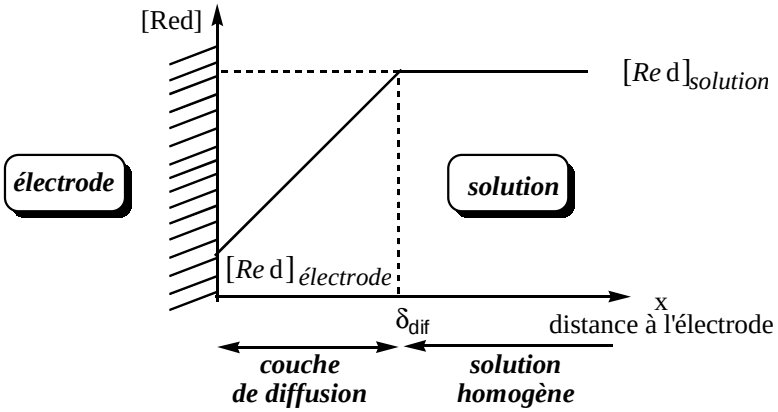


Figure 2 : *Profil de concentration*

Dans ces conditions et pour le système électrochimique (1), la relation entre l'intensité i et le flux J_{Red} est : $i = - n.F.A. J_{Red}$ avec A l'aire de l'électrode indicatrice.

I-2*a* En appliquant la première loi de Fick ($\vec{J} = - D_{Red} \overrightarrow{grad}[Red]$), donner l'expression de l'intensité i en fonction de $[Red]_{solution}$ et $[Red]_{électrode}$, D_{Red} le coefficient de diffusion de l'espèce *Red*, *A* la surface de l'électrode et δ_{dif}.

I-2*b* Lorsque le potentiel auquel est porté l'électrode indicatrice est nettement supérieur au potentiel standard $E°_{Ox/Red}$, l'intensité tend vers une valeur limite, noté i_{lim}, ce qui se traduit par l'existence d'un palier sur la courbe intensité-potentiel.

Quelle est alors la valeur de la concentration à proximité immédiate de la surface de l'électrode, $[Red]_{solution}$?

En déduire l'expression de i_{lim} pour une ultramicroélectrode disque-plan, de rayon *r*.

I-3 Etude des ultramicroélectrodes disque-plan, de rayon *r*

En régime de diffusion convective stationnaire (solution agitée ou électrode tournante), la couche de diffusion est maintenue constante au cours du temps. Au contraire, en régime de diffusion pure (pas de convection « mécanique » en solution, ce qui est le cas lors de mesure *in vitro*), l'épaisseur de la couche de diffusion, δ_{dif}, des espèces électroactives, ici *Red*, seul en

 © EduKlub S.A.
Tous droits de l'auteur des œuvres réservés. Sauf autorisation, la reproduction ainsi que toute utilisation des œuvres autre que la consultation individuelle et privée sont interdites.

Extrait gratuit de document, le document original comporte 16 pages.

solution), dépend de la distance parcourue par diffusion pour une molécule. Pour une expérience de durée *t*, cette distance est donnée par :

$$\delta_{dif} = \sqrt{2D_R\, t}$$

On admet que :

- si $\delta_{dif} << r$, la couche de diffusion est approximativement plane ou linéaire ;
- si $\delta_{dif} > r$, la taille de la couche de diffusion ne pouvant pas physiquement dépasser la dimension de l'électrode, la diffusion devient alors sphérique et son épaisseur δ_{dif} est constante et approximativement égale à deux fois le rayon *r* de l'électrode. La courbe intensité-potentiel présente alors un palier comme dans le cas **I-2b**.

  On peut alors considérer dans ce cas que le volume de solution affecté par le processus électrochimique, nommé *volume de solution sondée*, est une demi-sphère, de rayon δ_{dif}.

I-3*a* Avec une ultramicroélectrode de rayon 5 µm, (et un coefficient de diffusion de l'espèce considérée $D_{Red} = 10^{-5}$ cm^2/s), quel est le temps de mesure au-delà duquel le volume sondé (couche de diffusion) est constant ?

I-3*b* Evaluer pour cette électrode le volume de solution sondée ? Conclusion.

I-3*c*- On considère une ultramicroélectrode disque-plan de rayon 5 µm distante de 1 µm d'une plaque de verre sur laquelle a été déposée une cellule vivante en solution aqueuse (voir Figure 3) :

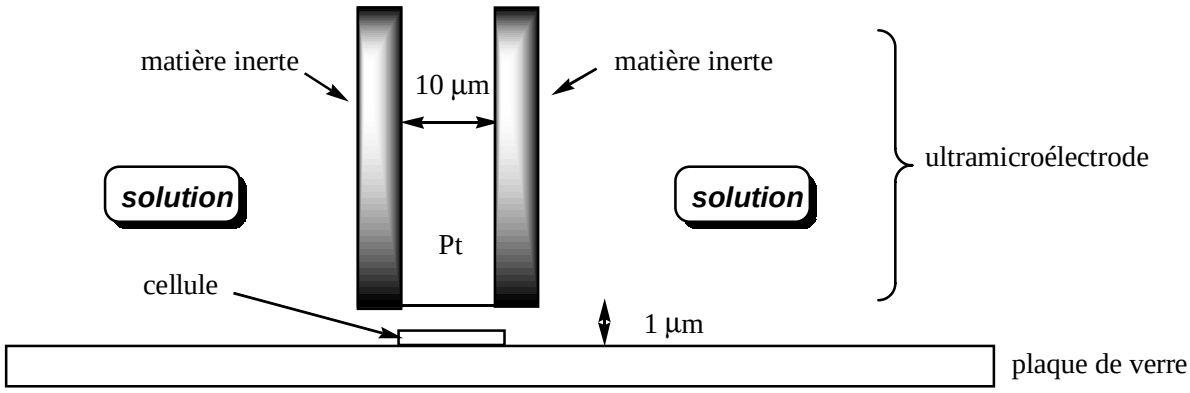


Figure 3 : ***Montage de mesure in vitro (l'échelle n'est pas respectée)***

Quel est approximativement le volume de solution sondée dans ce cas précis ?

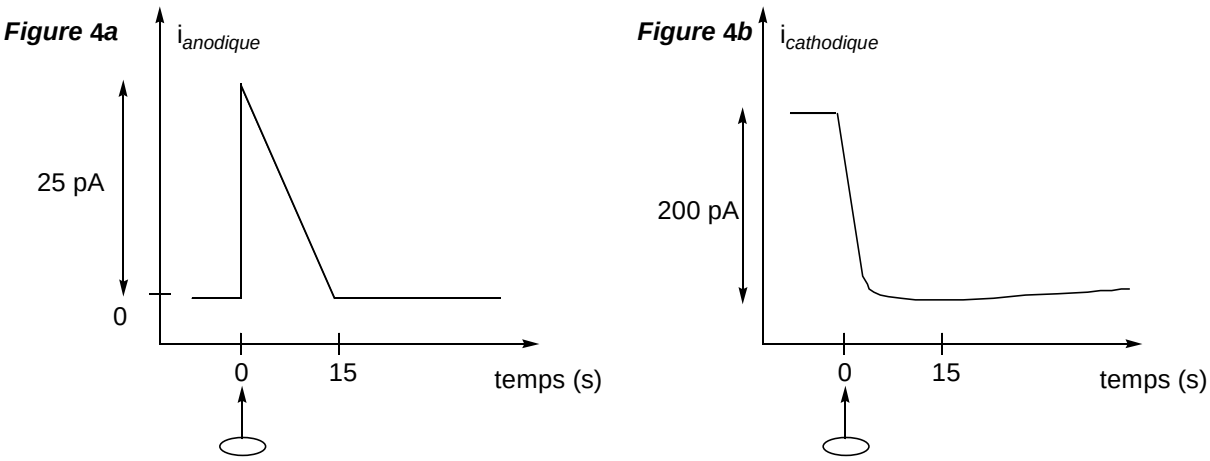
Une cellule subissant par exemple un stress oxydatif (voir partie II) libère jusqu'à 10 millions de molécules électroactives. Estimer alors la concentration à proximité immédiate de l'électrode.

© EduKlub S.A.
Tous droits de l'auteur des œuvres réservés. Sauf autorisation, la reproduction ainsi que toute utilisation des œuvres autre que la consultation individuelle et privée sont interdites.

Extrait gratuit de document, le document original comporte 16 pages.

II- Etude du stress oxydatif d'une cellule

Une cellule vivante, placée en solution aqueuse de pH = 7 et saturée en dioxygène O_2 est soumise à un stress « oxydatif ». On suit la concentration en dioxygène et en peroxyde d'hydrogène, H_2O_2, produit par la cellule à la suite de ce stress à partir de mesures électrochimiques. Ces dernières sont obtenues suite à la mise en œuvre du montage présenté à la question **I-3*c***. La « réponse » de la cellule au stress oxydatif est enregistrée à l'aide d'une ultramicroélectrode polarisée soit à + 0,6 V, soit à – 0,2 V, potentiels mesurés par rapport à une électrode $Ag(s)\,|\,AgCl(s)\,|\,KCl(aq)\,(1\ mol\cdot L^{-1})$. Le courant est mesuré en picoAmpère, pA et ses variations en fonction du temps sont représentées sur les figures **4*a*** et **4*b***.



Figures 4*a* et 4*b* : *Mesures électrochimiques suite à un stress oxydatif*
(les échelles ne sont pas respectées)

II-1 Réactions aux électrodes

II-1*a* Quelles sont les demi équations électroniques concernées par l'expérience ?

II-1*b* Evaluer à 298K le potentiel standard apparent en fonction du pH, $E^{\circ}_{app}(pH)$ pour chacune des espèces en solution.

Placer les courbes intensité-potentiel correspondantes sur un axe de potentiel dont l'origine est le ***potentiel de l'électrode de référence*** utilisée.

II-1*c* Vérifier que les potentiels appliqués à l'électrode indicatrice sont bien choisis.

 © EduKlub S.A.
Tous droits de l'auteur des œuvres réservés. Sauf autorisation, la reproduction ainsi que toute utilisation des œuvres autre que la consultation individuelle et privée sont interdites.

Extrait gratuit de document, le document original comporte 16 pages.